

Agradecimentos

Em primeiro lugar a Deus, que neste caso esteve presente nas seguintes pessoas:

Ao Professor Bernardo por toda a ajuda incansável e amizade na realização do trabalho e na elaboração do texto, Muito Obrigado.

À Dr. Patrícia Inácio por toda a sua ajuda na revisão do texto escrito e no fornecimento de materiais de estudo.

À D. Glória e à Dr. Anabela, do Laboratório de Inspeção Sanitária, por toda a ajuda na preparação dos meios e na preparação do material utilizado.

À Eng. M^a José, do Laboratório de Tecnologia dos alimentos por toda a ajuda na utilização do potenciômetro e do higrômetro.

Aos meus Pais, família e amigos por toda a amizade e disponibilidade.

***Listeria monocytogenes* em Alimentos prontos para consumo.**

Resumo

Durante o ano de 2010 ocorreram em Portugal alguns casos de listeriose humana que tiveram desfecho fatal. Na origem destes casos graves podem ter estado alimentos de origem animal prontos-para-consumo (APC).

Neste trabalho procurou-se investigar como evoluem as populações de *Listeria monocytogenes* em APC colocados no mercado.

Iniciou-se o estudo por um rastreio preliminar com 26 amostras de APCs, tendo todos revelado resultados negativos. Procedeu-se em seguida a uma avaliação da evolução de uma quantidade fixa de *L. monocytogenes* (≈ 1 a 2 ufc/g) em APC durante um prazo compatível com a vida útil desses produtos.

Para isso utilizaram-se produtos já colocados no mercado que foram artificialmente contaminados com as referidas bactérias e mantidos nas condições recomendadas pela respectiva rotulagem.

Os resultados revelaram interferências decorrentes da utilização de alguns aditivos alimentares que condicionam a evolução daquelas bactérias.

A evolução das contaminações foi comparada com a evolução expectável anunciada em modelos preditivos.

Os resultados não corresponderam ao que era fornecido pelos modelos preditivos utilizados.

***Listeria monocytogenes* in Ready-to-eat (RTE) products**

Abstract

During the year of 2010 several cases of human listeriosis occurred, which had a fatal ending. The origin of this serious event may have been linked to RTE products.

With this work, *Listeria monocytogenes* were searched in RTE products placed in the market and how it progresses.

The work started with a preliminary search in 26 samples of RTE, all of which had a negative result. Procedures were undertaken in order to characterize the evolution of a previously known concentration (≈ 1 a 2 ufc/g) of *Listeria monocytogenes* in RTE products during a period compatible with the commercial life period.

In order to achieve this, products already in placed in the market were used, which were artificially contaminated with the bacteria and preserved under the conditions recommended in the package.

The results showed several changes resulting from the use of some food additives that interfere with bacterial multiplication.

The evolution of the contamination level was compared with the expectable levels of multiplication declared by some informatic predictive models.

The results did not match the information given by the predictive models used.

Índice

Nota introdutória	1
Capítulo I	
• 1 - Situação epidemiológica na União Europeia em 2007	3
○ 1.1 – Distribuição por sexo e idade	3
○ 1.2 – Distribuição sazonal	4
• 2 – Relatório da EFSA sobre tendências e fontes das Zoonoses e agentes zoonóticos em 2007	5
• 3 – Base jurídica europeia	5
○ 3.1 – Critérios microbiológicos	6
• 4 – Introdução	7
○ 4.1 – Listeriose de origem alimentar	7
○ 4.2 – Transmissão	8
○ 4.3 – Doença em Humanos	9
○ 4.4 – Listeriose nos animais	10
○ 4.5 – O género <i>Listeria</i>	11
○ 4.6 – Características morfológicas e bioquímicas	12
▪ 4.6.1 – Características morfológicas	12
▪ 4.6.2 – Características culturais e bioquímicas	13
• 5 – Patogenia da listeriose	15
▪ 5.1 Regulação da entrada na célula e activação génica	15
• 6 – Estrutura antigénica	16
• 7 – Exposição a factores extremos	18
○ 7.1 – Sobrevivência/multiplicação a temperaturas de refrigeração e congelação	18
○ 7.2 – Resistência a temperaturas elevadas	20
○ 7.3 – Concentração hidrogeniónica (pH)	21
○ 7.4 – Actividade da água (a_w) e pressão osmótica	22
• 8 – Agentes utilizados no controlo de <i>Listeria monocytogenes</i> na indústria alimentar	23
○ 8.1 – As bactérias lácticas	23
○ 8.2 – Nisina	24
○ 8.3 – Lactato de potássio e diacetato de sódio	25
• 9 – Biofilme	27
○ 9.1 – Porque se formam os biofilmes?	27
○ 9.2 – Biofilme – organismos multicelulares?	28
	28

Capítulo V	72
• Bibliografia	72
Anexos	76
I. Quadro XV – Critérios de segurança para <i>L.monocytogenes</i> de acordo com os Regulamento (EC) Nº2073/2005 relativo a critérios microbiológicos nos géneros alimentícios (Adaptado do Regulamento EC nº 2073/2005)	77
II. Diagrama I – Procedimento utilizado no método de filtração das amostras inoculadas com <i>Listeria monocytogenes</i>	78
III. Diagrama II – Procedimento utilizado na análise de amostras para a pesquisa e contagem de <i>Listeria monocytogenes</i>	79

Índice de Gráficos

Grafico I – Taxas de notificação de casos de Listeriose por idade e género, na EU/EEA/EFTA, em 2007 (n=1635) (Fonte: ECDC, 2009).	4
Gráfico II – Distribuição sazonal de casos confirmados de listeriose na EU e EEA/EFTA, em 2007 (n=1635) (Fonte: ECDC, 2009).	4
Gráfico III – Resultados dos valores de pH das amostras utilizadas na pesquisa e contagem de <i>Listeria monocytogenes</i> .	59
Gráfico IV – Resultados de aW das amostras utilizadas na pesquisa e contagem de <i>Listeria monocytogenes</i> .	59
Gráfico V – Teores reais e expectáveis de uma suspensão de <i>Listeria monocytogenes</i> em soro fisiológico segundo padrão de opacidade McFarland.	66
Gráfico VI – Evolução de uma população inicial de 1 UFC/g de <i>Listeria monocytogenes</i> em “bacon” ao longo de um período de 28 dias de armazenamento a 4°C.	68
Gráfico VII – Evolução de uma população inicial de 2 UFC/g de <i>Listeria monocytogenes</i> em peito de peru ao longo de um período de 28 dias de armazenamento a 4°C	68
Gráfico VIII – Evolução de uma população inicial de 2 UFC/g de <i>Listeria monocytogenes</i> em salmão fumado ao longo de um período de 28 dias de armazenamento a 4°C.	69

Índice de Quadros

I. Quadro I – Principais toxinfecções alimentares (Adaptado de Prescott <i>et al.</i> , 1999)	8
II. Quadro II – Manifestações clínicas associadas à listeriose humana (Fonte: Guerra, 2003)	9
III. Quadro III. Principais espécies do género <i>Listeria</i> (Fonte: de Guerra, 2004)	12
IV. Quadro IV – Características culturais e bioquímicas do género <i>Listeria</i> spp.(Fonte: ICMSF, 1996)	14
V. Quadro V – Diferenciação entre espécies (Fonte: Lovett, 1990; e de Guerra, 2003).	14
VI. Quadro VI – Sero variedades do género <i>Listeria e</i> , <i>Listeria murrayi</i> e <i>Listeria grayi</i> (Fonte: Ferreira, 2000)	17
VII. Quadro VII – Sero variedades do género <i>Listeria</i> spp. (Fonte: Ferreira, 2000)	17
VIII. Quadro VIII – Listas dos desinfectantes testados, suas concentrações e tempos de acção (Fonte: Purkrtoová <i>et al.</i> , 2010).	34
IX. Quadro IX – Resultados de um estudo de pesquisa e contagem de <i>Listeria monocytogenes</i> na Dinamarca (adaptado de Norrung <i>et al.</i> , 1999)	39
X. Quadro X – Resultados de um estudo de pesquisa e contagem de <i>Listeria monocytogenes</i> na Dinamarca em 1997 e 1998 (adaptado de Norrung <i>et al.</i> , 1999).	41
XI. Quadro XI – Natureza e resultados das amostras analisadas. Fonte: de Mena <i>et al.</i> , 2004).	44
XII. Quadro XII – Influência da temperatura na evolução de contaminações de <i>L. monocytogenes</i> em salmão fumado (Fonte: Rorvik, 2000).	50
XIII. Quadro XIII – Amostras de alimentos “prontos para consumo” para a pesquisa e contagem de <i>Listeria monocytogenes</i> .	57
XIV. Quadro XIV – Critérios de segurança para <i>L.monocytogenes</i> de acordo com o Regulamento (EC) N°2073/2005 relativo a critérios microbiológicos nos géneros alimentícios (Adaptado do Regulamento EC nº 2073/2005)	77

Índice de Figuras

I. Figura I – De saprófita a intracelular (Fonte: Freitag <i>et al.</i> , 2010)	16
II. Figura II – Aspectos favoráveis à multiplicação bacteriana num biofilme (Fonte: Jefferson, 2004)	28
III. Figura III – Imagem de microscopia electrónica da formação de um biofilme por <i>Listeria monocytogenes</i>	30
IV. Figura IV – Protocolo de filtração para análise microbiológica de alimentos, segundo Baudouin <i>et al</i> , 2010	53

Índice de Diagramas

- | | |
|---|----|
| I. Diagrama I – Procedimento utilizado no método de filtração das amostras inoculadas com <i>Listeria monocytogenes</i> | 78 |
| II. Diagrama II – Procedimento utilizado na análise de amostras para pesquisa e contagem de <i>Listeria monocytogenes</i> | 79 |

Lista de abreviaturas

APC – Alimentos prontos para consume
CE – Comunidade Europeia
CMI – Concentração Mínima Inibitória
EFSA – European Food Safety Authority
ECDC – European Center for Disease prevention and control
FBO – Food Business Operators
GRAS – Generally Recognised as Safe
HACCP – Hazard Analysis Critic Control Point
InIA – Internalina A
InIB – Internalina B
LLO - Listeriolisina
OIE – Office International des Epizooties
PC – Prontos para consumo
RS – Rate strategy (Alta taxa de crescimento a um rendimento baixo)
RTE – Ready to eat
UE – União Europeia
UFC – Unidades formadoras de colónias
UI – Unidades Internacionais
YS – Yield strategy (Baixa taxa de crescimento a um rendimento elevado)